

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**Bescheinigung**

Die Bayer Aktiengesellschaft in 5090 Leverkusen hat
eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"N-alkylierte Derivate der 5-Amino-5-deoxy-D-
glucose, Verfahren zu ihrer Herstellung und
ihre Verwendung"

am 27. August 1977 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue
Wiedergabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patent-
anmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig die
Symbole C07D 211-40 und A61K 31-445 der Internationalen
Patentklassifikation erhalten.

München, den 24. Juli 1978
Der Präsident des Deutschen Patentamts
Im Auftrag

Klose

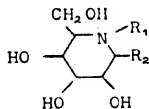
Aktenzeichen:
P 27 38 717.3

26. Aug. 1977

N-Alkylierte Derivate der 5-Amino-5-deoxy-D-glucose, Ver-
fahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung

Die vorliegende Erfindung betrifft neue N-alkylierte Derivate der 5-Amino-5-deoxy-D-glucose, mehrere Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung als Arzneimittel, insbesondere als Mittel gegen Diabetes, Hyperlipämie und Adipositas, sowie in der Tierernährung zur Beeinflussung des Fleisch/Fettverhältnisses zugunsten des Fleischanteils.

Er wurde nun gefunden, daß die neuen N-alkylierten Derivate der 5-Amino-5-deoxy-D-glucose der Formel I,



I

in der

R₁ einen gegebenenfalls substituierten, geradkettigen, verzweigten oder cyclischen gesättigten oder ungesättigten

aliphatischen Kohlenwasserstoffrest oder einen gegebenenfalls substituierten aromatischen oder heterocyclischen Rest darstellt und

R_2 H, OH, Alkoxy, Amino, Mono- und Dialkylamino, $-SO_3H$ oder $-CN$ bedeutet,

starke Inhibitoren für α -Glucosidasen insbesondere für Saccharasen sind. Darüber hinaus sind diese Verbindungen Hemmstoffe der intestinalen Glucoseabsorption.

Unter gegebenenfalls substituierten Resten R_1 werden vorzugsweise solche Kohlenwasserstoffreste oder heterocyclische Rest verstanden, bei denen ein oder mehrere Wasserstoffatome durch Halogen, Hydroxy, Alkoxy, Aryloxy oder durch gegebenenfalls substituierte Aminogruppen oder durch gegebenenfalls substituierte Aryl- oder heterocyclische Reste ersetzt sind.

R_1 in der Bedeutung eines gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffrestes steht bevorzugt für geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit 1 bis 30, insbesondere 1 bis 18 Kohlenstoffatomen. Beispielhaft seien Methyl, Äthyl, n-Propyl, n-Butyl, t-Butyl, n-Hexyl, n-Octyl, Octyl-(2), Dodecyl, Lauryl, Cetyl und Stearyl genannt.

Diese Alkylreste können einen oder mehrere vorzugsweise 1 bis 5, gleiche oder verschiedene Substituenten tragen. Als Substituenten seien beispielhaft aufgeführt: Hydroxy, Alkoxy mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, insbesondere Methoxy und Äthoxy; Amino, Monoalkylamino und Dialkylamino mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen

de Alkylrest, insbesondere Monomethylamino, Monoäthylamino, Diäthylamino und Diäthylamino; Mercapto, Alkylthio mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, insbesondere Methylthio und Äthylthio; Halogen, vorzugsweise Fluor, Chlor und Brom; Alkylcarbonyl mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkylrest; Carboxy, Nitro, Cyan, die Aldehydfunktion und die Sulfonsäuregruppe.

R_1 in der Bedeutung eines ungesättigten Kohlenwasserstoffrestes steht bevorzugt für geradkettige oder verzweigte Alkenylreste mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen, die weitere Substituenten wie Hydroxy, Alkoxy mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, Mercapto, Alkylthio mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, Halogen, Nitro u.a. tragen können.

R_1 in der Bedeutung eines cyclischen Kohlenwasserstoffrestes steht vorzugsweise für einen carbocyclischen Rest mit vorzugsweise 3 bis 7 Kohlenstoffatomen, der substituiert sein kann, wobei als Substituenten die bei den offenkettigen Kohlenwasserstoffresten genannten Gruppen und Atome in Betracht kommen.

R_1 in der Bedeutung eines aromatischen Restes steht vorzugsweise für aromatische Reste mit 6 oder 10 Kohlenstoffatomen im Arylteil, insbesondere Phenyl, die substituiert sein können.

Die Arylreste können einen oder mehrere, vorzugsweise bis 3 gleiche oder verschiedene Substituenten tragen. Als Substituenten seien beispielhaft aufgeführt: Alkyl mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen, die ihrerseits wieder

beispielsweise durch Chlor, Nitro oder Cyan substituiert sein können; gegebenenfalls substituierte Alkenylreste mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen; Hydroxy, Alkoxy mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen; Amino, Monoalkyl- und Dialkylamino mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen je Alkylrest; Mercapto, Alkylthio mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen; Carboxy, Carbalkoxy mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, die Sulfonsäuregruppe, Alkylsulfonyl mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, Arylsulfonyl, vorzugsweise Phenylsulfonyl; Aminosulfonyl-, Alkylamino- und Dialkylaminosulfonyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen je Alkylgruppe, vorzugsweise Methyl- und Dimethylaminosulfonyl; Nitro, Cyan oder die Aldehydgruppe; Alkylcarbonylamino mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen; Alkylcarbonyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, Benzoyl, Benzylcarbonyl und Phenyläthylcarbonyl, wobei die zuletzt genannten Alkyl, Phenyl, Benzyl und Phenyläthylreste ihrerseits wieder beispielsweise durch Chlor, Nitro oder Hydroxy substituiert sein können, sowie von Zuckern abgeleitete Reste.

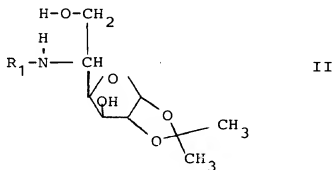
Die heterocyclischen Reste ^{R₁} sind bevorzugt von heteroparaffinischen, heteroaromatischen oder heteroolefinischen 5- oder 6-gliedrigen Ringen mit vorzugsweise 1 bis 3 gleichen oder verschiedenen Heteroatomen abgeleitet. Als Heteroatome stehen Sauerstoff, Schwefel oder Stickstoff. Diese Ringsysteme können weitere Substituenten wie beispielsweise Hydroxy-, Amino- oder C₁-C₄-Alkylgruppen tragen oder an sie können Benzolkerne oder weitere vorzugsweise 6-gliedrige heterocyclische Ringe der genannten Art anelliert sein.

Besonders bevorzugte heterocyclische Reste leiten sich beispielsweise von Furan, Pyran, Pyrrolidin, Piperidin, Pyrazol, Imidazol, Pyrimidin, Pyridazin, Pyrazin, Triazin, Pyrrol, Pyridin, Benzimidazol, Chinolin, Isochinolin oder Purin ab.

Bei R_2 in der Bedeutung von Alkoxy, Monoalkyl- oder Dialkylamino hat jeder Alkylrest vorzugsweise 1 bis 4 C-Atome.

In den Verbindungen der Formel I steht R_2 vorzugsweise für H, OH, SO_3H und CN. Besonders bevorzugt sind diejenigen Verbindungen der Formel I, in denen $R_2 = H$ oder OH ist.

Weiterhin wurde gefunden, daß man N-alkylierte Derivate der 5-Amino-5-deoxy-D-glucose der Formel I erhält, wenn man in Verbindungen der Formel II,

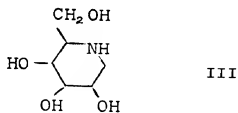


in der

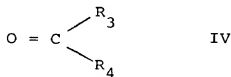
R_1 die oben angegebene Bedeutung hat,

durch vorsichtige Säurehydrolyse die Isopropylidenschutzgruppe entfernt, wobei es gegebenenfalls zweckmäßig ist, die Verbindungen der Formel I in der Form von Addukten der schwefligen Säure oder der Blausäure abzufangen ($R_2 = SO_3H$ oder CN). Aus dem Bisulfitadditionsprodukten werden die Verbindungen der Formel I mit $R_2 = OH$ durch Behandlung mit Basen, vorzugsweise Erdalkalihydroxiden wie $Ca(OH)_2$, oder $Sr(OH)_2$, insbesondere aber $Ba(OH)_2$ in Freiheit gesetzt. Durch Umsetzung mit Wasserstoff-Donor-Reduktionsmitteln wie beispielsweise $NaBH_4$ werden aus den Verbindungen der Formel I mit $R_2 = OH$ die Verbindungen der Formel I mit $R_2 = H$ gewonnen.

Es wurde auch gefunden, daß man Verbindungen der Formel I mit $R_2 = H$ erhält, wenn man 1-Desoxynojirimycin der Formel III

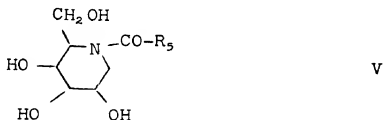


mit Carbonylverbindungen der Formel IV

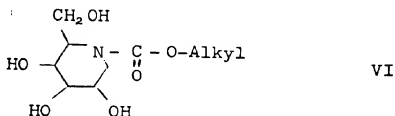


in der R_3 und R_4 entweder H oder die für R_1 gegebene Bedeutung haben oder Glieder eines alicyclischen oder heterocyclischen Ringes sind, in Gegenwart eines Wasserstoff-Donor-Reduktionsmittels umgesetzt.

Ferner erhält man Verbindungen der Formel I mit $R_2 = H$, wenn man Amide der Formel V



in der R_5 entweder H ist oder die für R_1 gegebene Bedeutung hat, oder Carbamate der Formel VI



- gegebenenfalls auch mit Hydroxyschutzgruppen versehene Derivate dieser Verbindungen - mit einem Amid-Reduktionsmittel zu Aminen reduziert.

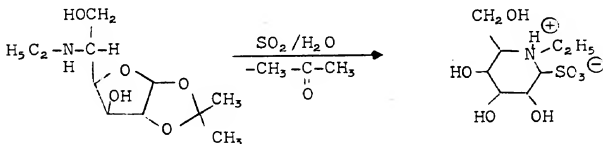
Ein weiteres Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I mit $R_2 = H$ besteht darin, daß man 1-Desoxinujirimycin der Formel III mit reaktiven Alkylierungsmitteln der Formel VII

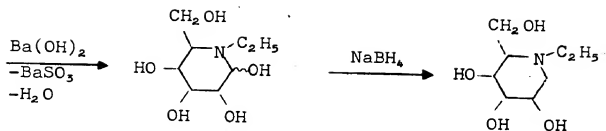
umsetzt, wobei R₁ die oben angegebene Bedeutung hat und Z eine in Alkylierungsmitteln gebräuchliche leicht austretende Gruppe wie beispielsweise Halogenid oder $^{\ominus}\text{O-SO}_3\text{H}$ ist.

Auf Grund ihrer stark ausgeprägten Hemmwirkung gegenüber α -Glucosidasen stellen die neuen Derivate der 5-Amine-5-deoxy-D-glucose wertvolle Mittel zur Beeinflussung einer Vielzahl von Stoffwechselvorgängen dar und bereichern somit den Arzneimittelschatz.

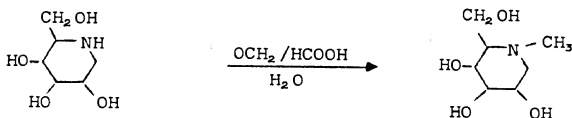
Die einzelnen Verfahrensweisen zur Herstellung der erfindungsgemäßen Wirkstoffe werden im folgenden veranschaulicht:

Verwendet man als Ausgangsstoff eine Verbindung der Formel II mit R₁ = Aethyl, so läßt sich der Reaktionsablauf wie folgt wiedergeben:

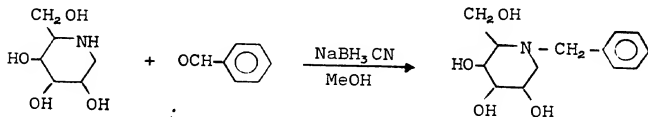




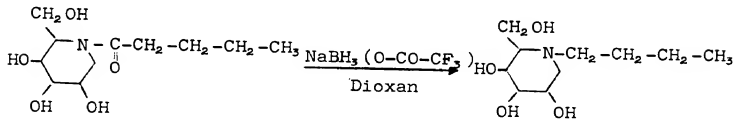
Mit 1-Desoxynojirimycin der Formel III und Formaldehyd als Ausgangsstoffen ergibt sich folgendes Formelschema:



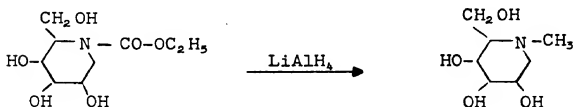
Mit Benzaldehyd als Carbonylkomponente wird die reduktive Alkylierung wie folgt durchgeführt:



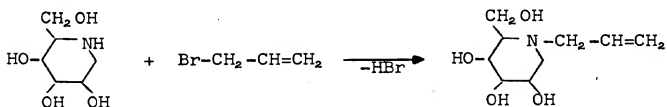
Geht man von Säureamiden der Formel V aus, so läßt sich die Reaktion wie folgt beschreiben:



Urethane der Formel IV - gegebenenfalls als mit Hydroxylschutzgruppen versehene Derivate - lassen sich mit LiAlH_4 zum N-Methyl-1-desoxynojirimycin reduzieren:

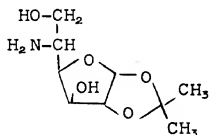


Für die Reaktion von 1-Desoxynojirimycin mit Alkylierungsmitteln sei die Reaktion mit Allylbromid als Beispiel angegeben:



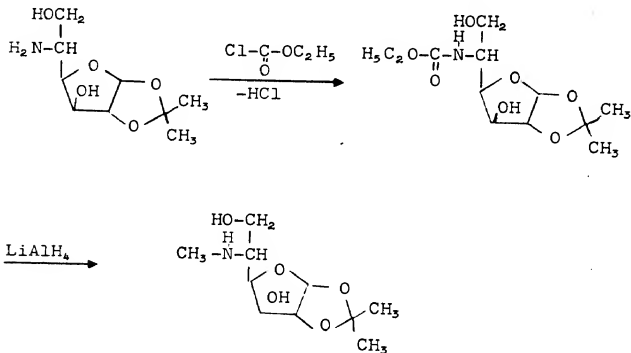
Die als Ausgangsstoffe verwendeten Verbindungen der Formel II sind neu. Sie können aber nach an sich bekannten Verfahren aus literaturbekannten Verbindungen hergestellt werden.

So kann man beispielsweise von der literaturbekannten Verbindung der Formel VIII



VIII

ausgehen und diese mit Carbonylverbindungen der Formel IV in Gegenwart eines Wasserstoff-Donor-Reduktionsmittels zu Verbindungen der Formel II umsetzen. Des weiteren kann man die Verbindung VIII mit reaktiven Säurederivaten zu Säureamiden oder Urethanen umsetzen und diese mit einem Amid-Reduktionsmittel zu Aminen reduzieren. Dies sei an einem Beispiel veranschaulicht:



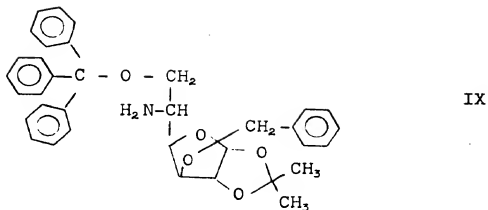
Die Verbindung der Formel VIII kann man auch mit reaktiven Alkylierungsmitteln der Formel VII



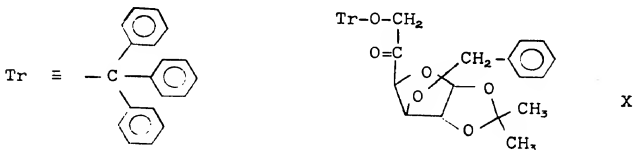
VII

zu Verbindungen der Formel II umsetzen.

Des weiteren kann man auch in die oben erwähnten Reaktionen anstelle der Verbindung VIII bekannte partiell geschützte Derivate der Formel IX einsetzen.



und anschließend die Trityl- und Benzyl-Schutzgruppen auf bekanntem Wege, beispielsweise mit Natrium in flüssigem Ammoniak, entfernen. Zur Darstellung von Verbindungen der Formel II kann auch die ebenfalls literaturbekannte Verbindung der Formel X



mit Aminen der Formel XI



in Gegenwart eines Wasserstoff-Donor-Reaktionsmittels, beispielsweise in Gegenwart von $NaBH_3CN$, umgesetzt werden. Bei dieser Reaktion entsteht in der Regel ein Diastereomeren-gemisch. Das nicht erwünschte Diastereomere wird gegebenenfalls auf dieser Stufe oder auf einer späteren Stufe durch

die üblichen chromatographischen Methoden oder durch fraktionierte Kristallisation abgetrennt. Schließlich werden die Trityl- und Benzylschutzgruppe auf bekanntem Wege, beispielsweise mit Natrium, in flüssigem Ammoniak abgespalten.

Die Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe aus den Verbindungen der Formel II erfolgt in mäßig stark saurer bis schwach saurer Lösung, bevorzugt in einem pH-Bereich zwischen 1 und 4, in wäßriger Lösung oder in einem mit Wasser mischbaren, wasserhaltigen organischen Lösungsmittel. Als Säuren können verdünnte Minderalsäuren wie beispielsweise Schwefelsäure oder auch organische Säuren wie Essigsäure verwendet werden. Die Reaktion wird bevorzugt bei Atmosphärendruck und einer Temperatur zwischen Raumtemperatur und der Siedetemperatur des Lösungsmittels durchgeführt.

Zur Aufarbeitung des Reaktionsansatzes wird die Säure neutralisiert und als Salz oder mit Hilfe eines basischen Ionenaustauschers abgetrennt. Die Isolierung der Verbindungen der Formel I mit $R_2=OH$ erfolgt dann gegebenenfalls durch ein schonendes Entfernen des Lösungsmittels, beispielsweise durch Lyophilisation.

Eine bevorzugte Ausführungsform der Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe aus Verbindungen der Formel II besteht darin, daß man die wäßrige oder wasserhaltige alkoholische Lösung der Verbindungen der Formel II mit SO_2 sättigt und mehrere Tage bei Temperaturen zwischen 20° und $50^\circ C$ aufbewahrt. Die Verbindungen der Formel I fallen dann als meist gut kristallisierende Bisulfitaddukte ($R_2 = -SO_3H$) an, aus denen sich die Verbindungen der Formel I mit Hilfe von z.B. wäßrigem $Ba(OH)_2$ freisetzen lassen.

Die Reduktion von Verbindungen der Formel I mit $R_2=OH$ zu Verbindungen der Formel I mit $R_2=H$ erfolgt durch Verwendung von Alkalimetallborhydriden, Alkalimetallcyano- borhydriden oder auch von Dialkylaminoboranen. Bevorzugt ist die Verwendung von Natriumborhydrid in wäßriger Lösung oder in einem mit Wasser mischbaren wasserhaltigen organischen Lösungsmittel, wie beispielsweise Dioxan, bei Raumtemperatur oder gegebenenfalls erhöhter Temperatur.

Das Ausgangsprodukt der Formel III ist bekannt und wird entweder durch katalytische Hydrierung aus dem durch Fermentation erhältlichen Najirimycin [S.S. Inoye et al., Tetrahedron 23, 2125-2144 (1968)] oder durch Extraktion aus Maulbeerbaumrinde (s. DT-OS 2 656 602) oder aber vollsynthetisch gewonnen. Nach einem neuen vorteilhaften Verfahren kann man 1-Desoxynojirimycin auch dadurch herstellen, daß man Organismen der Familie Bacillaceae in üblichen Nährlösungen bei Temperaturen von etwa 15 bis etwa 80°C etwa 1 bis etwa 8 Tage unter Belüftung in üblichen Fermentationsgefäßen kultiviert, die Zellen abschleudert und die Desoxyverbindungen aus der Kulturbrühe oder den Zell-extrakten durch übliche Reinigungsverfahren isoliert [Deutsche Patentanmeldung P 26 58 563.7 - (Le A 17 587)].

Die Carbonylverbindungen der Formel IV sind entweder bekannt oder können nach Standardverfahren hergestellt werden.

Als typische Beispiele seien im einzelnen genannt:

Gerad- oder verzweigt-kettige Alkylaldehyde wie Formaldehyd, Acetaldehyd, n-Propanal, n-Butanal, 2-Methylpropanal, n-Pentanal, 2-Methylbutanal, 3-Methylbutanal, 2,2-Dimethylpropanal,

n-Hexanal, 2-Äthylbutanal, n-Heptanal und n-Octanal; Alkenylaldehyde wie Propenal, 2-Methylpropenal, 2-Butenal, 2-Methyl-2-butenal, 2-Äthyl-2-hexenal; Cyclische Aldehyde wie Cyclopropancarbaldehyd, Cyclopentancarbaldehyd, Cyclopentanal, Cyclohexancarbaldehyd; Benzaldehyd, o-, m- und p-toluolcarbaldehyd und Phenylacetaldehyd; durch Hydroxy substituierte gerad- und verzweigtkettige Alkylaldehyde wie 5-Hydroxypentanal, 2-Hydroxy-3-methylbutanal, 2-Hydroxy-2-methylpropanal, 4-Hydroxybutanal, 2-Hydroxypropanal und 8-Hydroxyoctanal; durch Amino substituierte gerad- und verzweigtkettige Alkylaldehyde wie 5-Aminopentanal, 2-Aminopropanal, 3-Aminopropanal, 4-Aminobutanal, 2-Amino-3-methylbutanal, 8-Amino-octanal und mono-N-Alkylderivate davon; und durch Amino und Hydroxy disubstituierte gerad- und verzweigtkettige Alkylaldehyde wie 2-Hydroxy-5-aminopentanal, 3-Hydroxy-3-methyl-4-aminobutanal, 2-Hydroxy-4-aminobutanal, 2-Hydroxy-3-aminopropanal, 2-Hydroxy-2-methyl-3-aminopropanal, 2-Amino-3-hydroxyoctanal und mono-N-Alkylderivate davon.

Des weiteren:

Methoxy-acetaldehyd, Aethoxy-acetaldehyd, n-Propoxy-acetaldehyd, i-Propoxy-acetaldehyd, n-Butoxy-acetaldehyd, i-Butoxy-acetaldehyd, tert.-Butoxy-acetaldehyd, Cyclopropylmethyläthoxy-acetaldehyd, Cyclopropoxyacetaldehyd, 2-Methoxy-äthoxy-acetaldehyd, 2-Aethoxy-äthoxy-acetaldehyd, 2-Methoxy(1-methyl-äthoxy)-acetaldehyd, 2-Aethoxy(1-methyl-äthoxy)-acetaldehyd, Phenyloxy-acetaldehyd, 2-Methoxy-2-methyl-acetaldehyd, 2-Aethoxy-2-methyl-acetaldehyd, 2-n-Propoxy-2-methyl-acetaldehyd, 2-(i-Propoxy)-2-methyl-acetaldehyd, 2-(n-Butoxy)-2-methyl-acetaldehyd,

2-(1-Butoxy)-2-methyl-acetaldehyd, 2-(tert.-Butoxy)-2-methyl-acetaldehyd, 2-Cyclopropylmethoxy-2-methyl-acetaldehyd, 2-Cyclopropyloxy-2-methyl-acetaldehyd, 2-Methoxy-äthoxy- α -methyl-acetaldehyd, 2-Aethoxy-äthoxy- α -methyl-acetaldehyd, 2-Methoxy-(1-methyl-äthoxy) α -methyl-acetaldehyd, 2-Methoxy-2,2-dimethyl-acetaldehyd, 2-Aethoxy-2,2-dimethyl-acetaldehyd, 2-Cyclopropylmethoxy-acetaldehyd, 2-*w*-Butoxy-2,2-dimethyl-acetaldehyd, Methylthio-acetaldehyd, Aethylthio-acetaldehyd, *n*-Propylthio-acetaldehyd, 1-Propylthio-acetaldehyd, Cyclopropyl-methylthio-acetaldehyd, 3-Methoxy-propanal, 3-Aethoxy-propanal, 3-*n*- und 3-*i*-propoxy-propanal, 3-*n*-, 3-*i*- und 3-tert.-Butoxy-propanal, 3-Cyclopropyloxy-propanal, 3-Cyclopropylmethoxy-propanal, 3-Methoxy-3-methyl-propanal, 3-Aethoxy-3-methyl-propanal, 3-*n*- und 3-*i*-propoxy-3-methyl-propanal, 3-*n*-, 3-*i*- und 3-tert.-Butoxy-3-methyl-propanal, 2,3 und 4-Methoxy-butanal, 2,3 und 4-Aethoxy-butanal, 2-Methylthio-propanal, 2-Aethylthio-propanal, 3-Methylthio-propanal, 3-Aethylthio-propanal, 2-Methylthio-butanal, 3-Methylthio-butanal, 4-Methylthio-butanal, Furfurol, Tetrahydrofurfurol, Thiophen, 5-Bromthiophen, 5-Methylfurfurol, Pyran-carbaldehyd.

Außerdem seien als Ketone beispielsweise genannt:

Aceton, Methyläthylketon, Methyl-*n*-propylketon, Diäthylketon, Methylbutylketon, Cyclopentanon, Di-*n*-propyl-keton, Cyclohexanon, 3-Methylcyclohexanon, 4-Methylcyclohexanon, Acetophenon, Propiophenon, Butyrophenon, Phenylaceton, *p*-Methoxyacetophenon, *m*-Nitroacetophenon.

Als Wasserstoff-Donor-Reduktionsmittel kann man beispielsweise Ameisensäure verwenden (Leuckart-Wallach-Reaktion). Die Ameisensäure wird in großem Ueberschuß verwendet. Mit Formaldehyd als Carbonylkomponente kann die Reaktion in wäßriger Lösung durchgeführt werden, mit Ketonen und weniger reaktionsfähigen Aldehyden in wasserfreier Ameisensäure. Die Reaktionstemperaturen liegen zwischen 100 und 200°C, gegebenenfalls muß die Reaktion in einem Autoklaven durchgeführt werden.

Als Wasserstoff-Donor-Reduktionsmittel kann man auch katalytisch erregten Wasserstoff verwenden. Als Katalysator kommt vor allem Raney-Nickel in Frage, es können aber auch Edelmetallkatalysatoren Verwendung finden. Die Reaktion wird im allgemeinen bei Drucken zwischen 80 und 150 Atmosphären H_2 -Druck und Temperaturen zwischen 70 und 150°C durchgeführt. Als Lösungsmittel werden protische, polare Lösungsmittel besonders Alkohole bevorzugt.

Als Wasserstoff-Donor-Reduktionsmittel werden auch Alkalimetallcyanoborhydride, Dialkylaminoborane und Alkalimetallborhydride verwendet. Besonders bevorzugt in dieser Verfahrensvariante ist die Verwendung von Natriumcyanoborhydrid.

Die Reaktion wird im allgemeinen bei Raumtemperatur durchgeführt. Es kann aber auch günstig sein, kurz auf Rückflußtemperatur zu erhitzen.

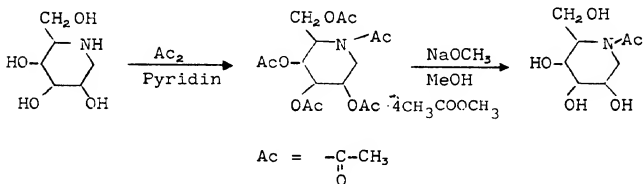
Das Verfahren wird üblicherweise in einem inerten Lösungsmittel durchgeführt. Obwohl wasserfreie aprotische Lösungsmittel eingesetzt werden können (z.B. Tetrahydrofuran, wenn das Reduktionsmittel Morpholinoboran ist), wird gewöhnlich doch ein protisches Lösungsmittel verwendet.

Als solches eignet sich z.B. ein niederes Alkanol oder vorzugsweise Wasser oder ein wäßriges niedriges Alkanol (z.B. wäßriges Methanol oder Aethanol) oder andere wäßrige Lösungsmittelsysteme, wie z.B. wäßriges Dimethylformamid, wäßriges Hexamethylphosphorsäuretriamid, wäßriges Tetrahydrofuran oder wäßriger Äthylenglycoldimethyläther.

Das Verfahren wird gewöhnlich in einem pH-Bereich von 1 bis 11 durchgeführt, bevorzugt ist ein pH-Bereich zwischen 4 und 7.

Die Säureamide der Formel V und Urethane der Formel VI sind zum Teil bekannt oder können nach bekannten Verfahren aus Verbindung III und reaktiven Säurederivaten, die auch in situ aus den freien Säuren gebildet werden können, erhalten werden.

Dabei kann die Reaktion so geführt werden, daß nur die Aminogruppe der Verbindung III mit dem Säurederivat reagiert, beispielsweise durch Verwendung überschüssigen Säureanhydrids in einer wäßrigen oder alkoholischen Lösung oder aber so, daß zunächst die peracylierten Verbindungen entstehen, die dann durch Umsetzung mit alkoholischem Ammoniak oder durch Alkalialkoholat katalysierte Umesterung in die N-acylierten Verbindungen überführt werden. Letzteres Verfahren sei an einem Beispiel erläutert:



Die Reduktion der Säureamide der Formel II zu Aminen der Formel I ($R = H$) kann mit komplexen Metallhydriden oder auch mit Borwasserstoffverbindungen erfolgen. Bevorzugt ist die Verwendung von $NaBH_4$ in Pyridin oder auch von Natriumacyloxyborhydriden, besonders die von Natriumtrifluoracetoxyborhydrid. Die Reduktionsmittel werden in der Regel im Ueberschuß eingesetzt. Natriumtrifluoracetoxyborhydrid wird in situ aus Natriumborhydrid und Trifluoressigsäure erzeugt. Als Lösungsmittel kommen neben Pyridin polare aprotische Lösungsmittel wie Dioxan, Tetrahydrofuran oder Diglyme in Frage. Die Reaktion wird bevorzugt bei der Siedetemperatur des Lösungsmittels durchgeführt. Gegebenenfalls kann auch $LiAlH_4$ zur Reduktion verwendet werden, bevorzugt dann, wenn die Hydroxylgruppen vorher auf üblichem Wege geschützt werden.

Die reaktiven Alkylierungsmittel der Formel VII sind bekannt oder können nach gängigen Verfahren hergestellt werden. Die Umsetzung mit der Verbindung III erfolgt in inerten organischen Lösungsmitteln bei Raum- bis Siedetemperatur mit oder ohne Zusatz eines säurebindenden Mittels.

Als neue Wirkstoffe seien im einzelnen genannt:

N-Methyl-1-nojirimycin

N-Äthyl-1- "

N-n-Butyl-1- "

N-Stearyl-1- "

N-i-Propyl-1- "

N-Benzyl-1- "

N-Allyl-1- "

N-(β -Methoxyäthyl)-1-nojirimycin

N-(β -Dimethylaminoäthyl)-1-nojirimycin

N-(o-Hydroxybenzyl)-1-nojirimycin

N-Methyl-1-desoxynojirimycin
 N-Äthyl-1- "
 N-n-Butyl-1- "
 N-Stearyl-1- "
 N-i-Propyl-1- "
 N-Benzyl-1- "
 N-Allyl-1- "
 N-(β -Methoxyäthyl)-1-desoxynojirimycin
 N-(β -Dimethylaminoäthyl)-1- "
 N-(o-Hydroxybenzyl)-1- "

N-Methyl-1-desoxynojirimycin-1-sulfonsäure
 N-Äthyl-1- " "
 N-n-Butyl-1- " "
 N-Stearyl-1- " "
 N-i-Propyl-1- " "
 N-Benzyl-1- " "
 N-Allyl-1- " "
 N-(β -Methoxyäthyl)-1-" "
 N-(β -Dimethylaminoäthyl)-1-desoxynojirimycin-1-sulfonsäure
 N-(o-Hydroxybenzyl)-1- " "

N-Methyl-1-cyan-desoxynojirimycin
 N-Äthyl-1- " "
 N-n-Butyl-1- " "
 N-Stearyl-1- " "
 N-i-Propyl-1- " "
 N-Benzyl-1- " "
 N-Allyl-1- " "
 N-(β -Methoxyäthyl)-1-cyan-desoxynojirimycin
 N-(β -Dimethylaminoäthyl)-1-cyan-desoxynojirimycin
 N-(o-Hydroxybenzyl)-1-cyan-desoxynojirimycin.

Die erfindungsgemäßen Inhibitoren eignen sich als
Therapeutica für folgende Indikationen:

Prädiabetes, Gastritis, Obstipation, Karies, Atheroskele-
rose und besonders Adipositas, Diabetes und Hyperlipo-
protämie.

Zur Verbreiterung des Wirkungsspektrums kann es sich empfeh-
len, Inhibitoren für Glycosidhydrolasen, die sich gegenseitig
in ihrer Wirkung ergänzen, zu kombinieren, sei es, daß es sich
um Kombinationen der erfindungsgemäßen Inhibitoren unter-
einander oder um Kombinationen der erfindungsgemäßen In-
hibitoren mit bereits bekannten handelt. So kann es bei-
spielsweise zweckmäßig sein, erfindungsgemäße Saccharase-
Inhibitoren mit bereits bekannten Amylase-Inhibitoren zu
kombinieren.

Vorteilhaft sind in manchen Fällen auch Kombinationen der
erfindungsgemäßen Inhibitoren mit bekannten oralen Antidia-
betica (β -cytotrope Sulfonylharnstoffderivate und/oder
Glukosewirksame Biguanide) sowie mit blutlipid-senkenden
Wirkstoffen wie z. B. Clofibrat, Nicotinsäure, Cholesty-
ramin und andere.

Die Verbindungen können ohne Verdünnung, z. B. als Pulver oder
in einer Gelatinehülle oder in Kombination mit einem Träger-
stoff in einer pharmazeutischen Zusammensetzung appliziert
werden.

Pharmazeutische Zubereitungen können eine größere oder klei-
nere Menge des Inhibitors enthalten, z. B. 0,1 % bis 99,5 %,
in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen nicht-
toxischen, inerten Trägerstoff, wobei der Trägerstoff eine
oder mehrere feste, halbfeste oder flüssige Verdünnungs-

mittel, Füllstoffe und/oder nichttoxisches, inertes und pharmazeutisch-verträgliches Formulierungshilfsmittel enthalten kann. Solche pharmazeutischen Zubereitungen liegen vorzugsweise in Form von Dosierungseinheiten vor, d. h. physikalisch-diskrete, eine bestimmte Menge des Inhibitors enthaltenden Einheiten, die einem Bruchteil oder einem Vielfachen der Dosis entsprechen, die zur Herbeiführung der gewünschten Hemmwirkung entsprechen. Die Dosierungseinheiten können 1, 2, 3, 4 oder mehr Einzeldosen oder $1/2$, $1/3$ oder $1/4$ einer Einzeldosis enthalten. Eine Einzeldosis enthält vorzugsweise eine genügende Menge Wirkstoff, um bei einer Applikation gemäß eines vorher bestimmten Dosierungsschemas einer oder mehrerer Dosierungseinheiten die gewünschte Hemmwirkung zu erzielen, wobei eine ganze, eine halbe, oder ein Drittel oder ein Viertel der Tagesdosis gewöhnlich zu allen, Haupt- und Nebenmahlzeiten am Tage verabreicht wird. Andere therapeutische Mittel können auch eingenommen werden. Obgleich die Dosierung und das Dosierungsschema in jedem Fall sorgsam abgewogen werden sollte, unter Anwendung gründlichen fachmännischen Urteils und unter Beachtung des Alters, des Gewichts und des Zustands des Patienten, der Art und der Schwere der Erkrankung, wird die Dosierung gewöhnlich in einem Bereich zwischen etwa 1 bis etwa 1×10^4 SIE/kg des Körpergewichtes pro Tag liegen. In manchen Fällen wird man dabei eine ausreichende therapeutische Wirkung mit einer geringeren Dosis erreichen, während in anderen Fällen eine größere Dosis erforderlich sein wird.

Orale Applikation kann unter Verwendung fester und flüssiger Dosierungseinheiten durchgeführt werden, wie z. B. Pulver, Tabletten, Dragees, Kapseln, Granulate, Suspensionen, Lösungen und dergleichen.

Pulver wird durch Zerkleinerung der Substanz in einer geeigneten Größe und Vermischen mit einem ebenfalls zerkleinerten pharmazeutischen Trägerstoff hergestellt. Obgleich ein eßbares Kohlenhydrat, wie z. B. Stärke, Lactose, Saccharose oder Glucose normalerweise zu diesem Zwecke Verwendung findet und auch hier benutzt werden kann, ist es wünschenswert ein nicht metabolisierbares Kohlenhydrat, wie z. B. ein Cellulosederivat zu benutzen.

Süßmittel, Geschmackszusätze, Konservierungsstoffe, Dispergiermittel und Färbemittel können auch mitverwendet werden.

Die Kapseln können durch Zubereitung der oben beschriebenen Pulvermischung und durch Füllung bereits gebildeter Gelatinekapseln hergestellt werden. Die Pulvermischung kann man vor dem Füllvorgang mit Gleitmitteln, wie z. B. Kieselgel, Talkum, Magnesiumstearat, Calciumstearat oder festem Polyäthylenglykol versetzen. Die Mischung kann man ebenfalls mit einem Desintegrator oder Lösungsvermittler, wie z. B. Agar-Agar, Calciumcarbonat oder Natriumcarbonat versetzen, um bei Einnahme der Kapsel die Zugänglichkeit des Inhibitors zu verbessern.

Die Anfertigung der Tabletten erfolgt zum Beispiel durch Herstellung einer Pulvermischung, grob oder feinkörnig, und Hinzufügung eines Gleitmittels und Desintegrators. Aus dieser Mischung formt man Tabletten. Eine Pulvermischung bereitet man vor durch Mischung der Substanz, welche in geeigneter Weise zerkleinert wurde und ergänzt ein Verdünnungsmittel oder eine andere Trägersubstanz wie oben beschreiben. Gegebenenfalls fügt man ein Bindemittel hinzu: z. B. Carboxymethylcellulose, Alginate, Gelatine oder Polyvinylpyrrolidone, einen Lösungsverzögerer, wie z. B. Paraffin, einen Resorptionsbeschleuniger, wie z. B. ein quarternäres Salz und/oder ein

Adsorptionsmittel, wie z. B. Bentonit, Kaolin oder Dicalciumphosphat. Die Pulvermischung kann granuliert werden zusammen mit einem Bindemittel, wie z. B. Sirup, Stärkepaste, Akazienschleim, oder Lösungen aus Zellulose- oder Polymerenmaterialien. Danach preßt man das Produkt durch ein grobes Sieb. Als Alternative hierzu kann man die Pulvermischung durch eine Tablettenmaschine laufen lassen und die sich ergebenden ungleichmäßig geformten Stücke bis auf Korngröße zerkleinern. Damit die entstandenen Körner nicht in den tablettenbildenden Düsen stecken bleiben, kann man sie mit einem Gleitmittel versetzen, wie z. B. Stearinsäure, Stearatsalz, Talkum oder Mineralöl. Diese gleitfähig gemachte Mischung wird dann in Tablettenform gepreßt. Die Wirkstoffe können auch mit freifließenden inerten Trägerstoffen vereinigt werden und direkt in Tablettenform gebracht werden unter Auslassung der Granulat- oder Zerstückelungsschritte. Man kann das Produkt mit einer klaren oder opaken Schutzhülle versehen, z. B. einem Überzug aus Schellack, einem Überzug aus Zucker oder Polymer-substanzen und einer polierten Hülle aus Wachs. Farbstoffe können diesen Überzügen beigelegt werden, damit zwischen den verschiedenen Dosierungseinheiten unterschieden werden kann.

Die oral zu verabreichenden Zubereitungsformen, wie z. B. Lösungen, Syrup und Elixire, lassen sich in Dosierungseinheiten herstellen, so daß eine bestimmte Menge Präparat eine bestimmte Menge Wirkstoff enthält. Syrup kann so hergestellt werden, daß der Wirkstoff in einer wäßrigen Lösung, welche geeignete Geschmacksstoffe enthält, gelöst wird; Elixire werden unter Verwendung nichttoxischer, alkoholischer Trägerstoffe erhalten. Suspensionen kann man durch Dispergieren der Verbindung in einem nicht toxischen Trägerstoff darstellen. Lösungsvermittler und Emulgiermittel, wie z. B. äthoxylierte Isostearylalkohole und Polyoxyäthylensorbitester, Konservierungsmittel, geschmacksverbessernde Zusätze wie z. B. Pfefferminzöl oder Saccharin und dergl. können auch zugegeben werden.

Dosierungsvorschriften können auf der Kapsel angegeben werden. Überdies kann die Dosierung so abgesichert sein, daß der Wirkstoff verzögert abgegeben wird, z. B. durch Einhalten des Wirkstoffes in Polymerensubstanzen, Wachse oder dergl.

Zusätzlich zu den oben erwähnten pharmazeutischen Zusammensetzungen lassen sich auch diese Wirkstoffe enthaltende Lebensmittel hergestellt werden; beispielsweise Zucker, Brot, Kartoffelprodukte, Fruchtsaft, Bier, Schokolade und andere Konfektartikel, und Konserven, wie z. B. Marmelade, wobei zu diesen Produkten eine therapeutisch-wirksame Menge mindestens eines der erfindungsgemäßen Inhibitoren gegeben wurde.

Die erfindungsgemäßen Inhibitoren weisen weiterhin die Eigenschaft auf, in Tieren das Verhältnis des Anteiles an unerwünschtem Fett zum Anteil des erwünschten fettarmen Fleisches (mageres Fleisch) zugunsten des mageren Fleisches in hohem Maße zu beeinflussen. Dies ist von besonderer Bedeutung für die Aufzucht und Haltung von landwirtschaftlichen Nutztieren, z. B. in der Schweinemast, aber auch von erheblicher Bedeutung für die Aufzucht und Haltung von sonstigen Nutztieren und Ziertieren. Die Verwendung der Inhibitoren kann weiterhin zu einer erheblichen Rationalisierung der Fütterung der Tiere führen, sowohl zeitlich, mengenmäßig wie auch qualitätsmäßig. Da sie eine gewisse Verzögerung der Verdauung bewirken, wird die Verweildauer der Nährstoffe im Verdauungstrakt verlängert, wodurch eine mit weniger Aufwand verbundene ad libitum-Fütterung ermöglicht wird. Weiterhin ergibt sich bei der Verwendung der erfindungsgemäßen Inhibitoren in vielen Fällen eine erhebliche Einsparung von wertvollem Proteinfutter.

Die Wirkstoffe können somit praktisch in allen Bereichen der Tierernährung als Mittel zur Reduzierung des Fettansatzes sowie der Einsparung von Futtereiweiß verwendet werden.

Die Wirksamkeit der Wirkstoffe ist hierbei weitgehend unabhängig von der Art und dem Geschlecht der Tiere. Besonders wertvoll erweisen sich die Wirkstoffe bei Tierarten, die überhaupt oder in bestimmten Lebensabschnitten zu stärkerer Fetteinlagerung neigen.

Als Tiere, bei denen die Inhibitoren zur Reduzierung des Fettansatzes und/oder zur Einsparung von Futtereiweiß eingesetzt werden können, seien beispielsweise folgende Nutz- und Ziertiere genannt: Warmblüter wie Rinder, Schweine, Pferde, Schafe, Ziegen, Katzen, Hunde, Kaninchen, Pelztiere, z. B. Nerze, Chinchilla, andere Ziertiere, z. B. Meerschweinchen und Hamster, Labor- und Zootiere, z. B. Ratten, Mäuse, Affen usw. Geflügel, z. B. Broiler, Hühner, Gänse, Enten, Truthähne, Tauben, Papageien und Kanarienvögel und Kaltblüter, wie Fische, z. B. Karpfen und Reptilien, z. B. Schlangen.

Die Menge der Wirkstoffe, die den Tieren zur Erreichung des gewünschten Effektes verabreicht wird, kann wegen der günstigen Eigenschaften der Wirkstoffe weitgehend variiert werden. Sie liegt vorzugsweise bei etwa 0,5 mg bis 2,5 g, insbesondere 10 bis 100 mg/kg Futter pro Tag. Die Dauer der Verabreichung kann von wenigen Stunden oder Tagen bis zu mehreren Jahren betragen. Die passende Menge Wirkstoff sowie die passende Dauer der Verabreichung stehen in engem Zusammenhang mit dem Fütterungsziel. Sie hängen insbesondere von der Art, dem Alter, dem Geschlecht, dem Gesundheitszustand und der Art der Haltung der Tiere ab und sind durch jeden Fachmann leicht zu ermitteln.

Die erfindungsgemäßen Wirkstoffe werden den Tieren nach den üblichen Methoden verabreicht. Die Art der Verabreichung hängt insbesondere von der Art, dem Verhalten und dem Allgemeinzustand der Tiere ab. So kann die Verabreichung einmal oder mehrmals täglich, in regelmäßigen oder unregelmäßigen Abständen, oral erfolgen. Aus Zweckmäßigkeitsgründen ist in den meisten Fällen eine orale Verabreichung, insbesondere im Rhythmus der Nahrungs- und/oder Getränkeaufnahme der Tiere, vorzuziehen.

Die Wirkstoffe können als reine Stoffe oder in formulierter Form verabreicht werden, wobei die formulierte Form sowohl als Premix, also in Mischung mit nichttoxischen inerten Trägerstoffen beliebiger Art, als auch als Teil einer Gesamtration in Form eines Beifutters bzw. als Mischungsbestandteil eines alleinigen Mischfutters zu verstehen ist. Mit eingeschlossen ist auch die Applikation geeigneter Zubereitungen über das Trinkwasser.

Die Wirkstoffe können gegebenenfalls in formulierter Form auch zusammen mit anderen Nähr- und Wirkstoffen, z. B. Mineralsalzen, Spurenelementen, Vitaminen, Eiweißstoffen, Energieträgern (z. B. Stärke, Zucker, Fette), Farbstoffen und/oder Geschmacksstoffen oder anderen Futterzusatzstoffen, wie z. B. Wachstumsförderern, in geeigneter Form verabreicht werden. Die Wirkstoffe können den Tieren vor, während oder nach der Nahrungsaufnahme gegeben werden.

Empfehlenswert ist die orale Verabreichung zusammen mit dem Futter und/oder Trinkwasser, wobei je nach Bedarf die Wirkstoffe der Gesamtmenge oder nur Teilen des Futters und/oder Trinkwassers zugegeben werden.

Die Wirkstoffe können nach üblichen Methoden durch einfaches Mischen als reine Stoffe, vorzugsweise in fein verteilter

Form oder in formulierter Form in Mischung mit eßbaren, nichttoxischen Trägerstoffen, gegebenenfalls auch in Form eines Premix oder eines Futterkonzentrates, dem Futter und/oder dem Trinkwasser beigelegt werden.

Das Futter und/oder Trinkwasser kann beispielsweise die erfindungsgemäßen Wirkstoffe in einer Konzentration von etwa 0,001 bis 5,0 %, insbesondere 0,02 bis 2,0 % (Gewicht) enthalten. Die optimale Höhe der Konzentration des Wirkstoffs im Futter und/oder Trinkwasser ist insbesondere abhängig von der Menge der Futter- und /oder Trinkwasseraufnahme der Tiere und kann durch jeden Fachmann leicht ermittelt werden.

Die Art des Futters und seine Zusammensetzung ist hierbei ohne Belang. Es können alle gebräuchlichen, handelsüblichen oder speziellen Futterzusammensetzungen verwendet werden, die vorzugsweise das übliche, für eine ausgewogene Ernährung notwendige Gleichgewicht aus Energie- und Eiweißstoffen, einschließlich Vitaminen und Mineralstoffen enthalten. Das Futter kann sich beispielsweise zusammensetzen aus pflanzlichen Stoffen, z. B. Ölkuchenschroten, Getreideschroten, Getreidenebenprodukten, aber auch aus Heu, Gärfutter, Rüben und anderen Futterpflanzen, aus tierischen Stoffen, z. B. Fleisch- und Fischprodukte, Knochenmehl, Fette, Vitamine, z. B. A, D, E, K und B-Komplex sowie spezielle Proteinquellen, z. B. Hefen sowie bestimmte Aminosäuren und Mineralstoffen und Spurenelementen, wie z. B. Phosphor und Eisen, Zink, Mangan, Kupfer, Kobalt, Jod usw.

Premixe können vorzugsweise etwa 0,1 bis 50 %, insbesondere 0,5 bis 5,0 % (Gewicht) z.B. N-Methyl-1-desoxynojirimycin neben beliebigen eßbaren Trägerstoffen und/oder Mineralsalzen, z.B. kohlensaurem Futterkalk enthalten und werden nach den üblichen Mischmethoden hergestellt.

Mischfutter enthalten vorzugsweise 0,001 bis 5,0 %, insbesondere 0,02 bis 2,0 % (Gewicht) beispielsweise an N-Methyl-1-desoxynojirimycin neben den üblichen Rohstoffkomponenten eines Mischfutters, z. B. Getreideschrote oder -nebenprodukte, Ölkuchenschrote, tierisches Eiweiß, Mineralien, Spurenelemente und Vitamine. Sie können nach den üblichen Mischmethoden hergestellt werden.

Vorzugsweise in Premixen und Mischfuttermitteln können die Wirkstoffe gegebenenfalls auch durch ihre Oberfläche bedeckenden geeigneten Mittel, z. B. mit nichttoxischen Wachsen oder Gelatine vor Luft, Licht und/oder Feuchtigkeit geschützt werden.

Beispiel für die Zusammensetzung eines fertigen Mischfutters, für Geflügel, das einen erfindungsgemäßen Wirkstoff enthält:

200 g Weizen, 340 g Mais, 360,3 g Sojaschrot, 60 g Rindertalg, 15 g Dicalciumphosphat, 10 g Calciumcarbonat, 4 g jodiertes Kochsalz, 7,5 g Vitamin-Mineral-Mischung und 3,2 g Wirkstoff-Premix ergeben nach sorgfältigem Mischen 1 kg Futter.

Die Vitamin-Mineral-Mischung besteht aus:

6000 I.E. Vitamin A, 1000 I.E. Vitamin D₃, 10 mg Vitamin E, 1 mg Vitamin K₃, 3 mg Riboflavin, 2 mg Pyridoxin, 20 mcg Vitamin B₁₂, 5 mg Calciumpantothenat, 30 mg Nikotinsäure, 200 mg Cholinchlorid, 200 mg Mn SO₄ x H₂O, 140 mg Zn SO₄ x 7H₂O, 100 mg Fe SO₄ x 7H₂O und 20 mg Cu SO₄ x 5H₂O.

Der Wirkstoff-Premix enthält z. B. 1-Desoxynojirimycin in

der gewünschten Menge, z. B. 1600 mg und zusätzlich 1 g DL-Methionin sowie so viel Sojabohnenmehl, daß 3,2 g Premix entstehen.

Beispiel für die Zusammensetzung eines Schweinemischfutters, das einen Wirkstoff der Formel I enthält:

630 g Futtergetreideschrot (zusammengesetzt aus 200 g Mais-, 150 g Gerste-, 150 g Hafer- und 130 g Weizenschrot), 80 g Fischmehl, 60 g Sojaschrot, 58,8 g Tapiokamehl, 38 g Bierhefe, 50 g Vitamin-Mineral-Mischung für Schweine (Zusammensetzung, z. B. wie beim Kükenfutter) 30 g Leinkuchenmehl, 30 g Mais-kleberfutter, 10 g Sojaöl, 10 g Zuckerrohrmelasse und 2 g Wirkstoff-Premix (Zusammensetzung z. B. beim Kükenfutter) ergeben nach sorgfältigem Mischen 1 kg Futter.

Die angegebenen Futtergemische sind vorzugsweise zur Aufzucht und Mast von Küken bzw. Schweinen abgestimmt, sie können jedoch in gleicher oder ähnlicher Zusammensetzung auch zur Aufzucht und Mast anderer Tiere verwendet werden.

Die Inhibitoren können einzeln oder aber auch in beliebigen Mischungen untereinander verwendet werden.

Saccharase-Inhibitionstest in vitro

Der Saccharase-Inhibitionstest in vitro ermöglicht die Bestimmung der enzyminhibitorischen Aktivität einer Substanz durch den Vergleich der Aktivität des solubilisierten intestinalen Disaccharidasen-Komplexes in Gegenwart bzw. in Abwesenheit (sog. 100%-Wert) des Inhibitors. Als Substrat, welches die Spezifität des Inhibitionstestes bestimmt, dient

dabei eine praktisch Glucose-freie Saccharose (Glucose < 100 ppm); die Enzymaktivitätsbestimmung basiert auf der spektrophotometrischen Bestimmung freigesetzter Glucose mittels Glucose-Dehydrogenase und Nicotinamid-adenin-dinucleotid als Cofaktor.

Eine Saccharase-Inhibitor-Einheit (SIE) ist definiert als diejenige inhibitorische Aktivität, welche in einem definierten Testansatz eine vorgegebene saccharolytische Aktivität um eine Einheit (Saccharase-Einheit = SE) reduziert; die Saccharase-Einheit ist dabei als diejenige Enzymaktivität definiert, welche unter vorgegebenen Bedingungen ein μmol Saccharose pro min spaltet und damit zur Freisetzung von je ein μmol Glucose, welche im Test bestimmt wird, und Fructose, welche im Test nicht erfaßt wird, führt.

Der intestinale Disaccharidasen-Komplex wird aus Schweinedünndarm-Mucosa durch tryptische Verdauung, Fällung aus 66% Äthanol bei -20°C , Aufnehmen des Präcipitates in 100 mM Phosphat-Puffer, pH 7,0 und abschließende Dialyse gegen denselben Puffer gewonnen.

10 μl einer Probelösung, die so angesetzt ist, daß die Extinktion des Testansatzes mindestens 10%, jedoch nicht mehr als 25% unter der des 100%-Wertes liegt, werden mit 100 μl einer Verdünnung des intestinalen Disaccharidasen-Komplexes in 0,1 M Maleinat-Puffer, pH 6,25, versetzt und für 10 min bei 37°C vortinkubiert. Die Verdünnung des Disaccharidasen-Komplexes ist auf eine Aktivität von 0,1 SE/ml einzustellen.

Anschließend wird die saccharolytische Reaktion durch Zugabe von 100 μ l einer 0,4 M Lösung von Saccharose ("SERVA 35579") in 0,1 M Maleinat-Puffer, pH 6,25 gestartet und nach einer Inkubationsdauer von 20 min bei 37°C durch die Zugabe von 1 ml Glucose-Dehydrogenase-Reagenz (1 Fläschchen Glucose-Dehydrogenase-Mutarotase-Gemisch lyophilisiert ("MERCK 14053") und 331,7 mg β -Nicotinamid-adenin-dinucleotid (freie Säure, "BOEHRINGER" Reinheitsgrad I) in 250 ml 0,5 M Tris-Puffer, pH 7,6 gelöst) abgestoppt. Zum Nachweis der Glucose wird 30 min bei 37°C inkubiert und schließlich bei 340 nm gegen einen Reagenzienblank (mit Enzym, jedoch ohne Saccharose) photometriert.

Die Berechnung der Hemmaktivität von Inhibitoren ist dadurch erschwert, daß schon geringfügige Änderungen im Testsystem, beispielsweise ein geringfügig von Bestimmung zu Bestimmung variierender 100%-Wert, von nicht mehr zu vernachlässigendem Einfluß auf das Testergebnis sind. Man umgeht diese Schwierigkeiten, indem man bei jeder Bestimmung einen Standard mitlaufen läßt; als Standard dient ein Saccharase-Inhibitor der Formel $C_{25}H_{43}O_{18}N$, welcher eine spezifische Hemmaktivität von 77 700 SIE/g aufweist und bei eingesetzten Mengen von 10 bis 20 ng im Test zu einer Hemmung von oben spezifizierter Größenordnung führt. Bei Kenntnis der Differenz der Extinktionen bei 340 nm von 100%-Wert und durch Standard gehemmtem Ansatz läßt sich aus der Extinktionsdifferenz von 100%-Wert und durch die Probelösung gehemmtem Ansatz unter Berücksichtigung der eingesetzten Menge an Inhibitor in bekannter Weise dessen spezifische Hemmaktivität errechnen, ausgedrückt in Saccharase-Inhibitor-Einheiten pro Gramm (SIE/g).

Spezifische_saccharaseinhibitorische_Aktivität_in_vitro

| | |
|------------------------------|-----------------|
| 1-Desoxynojirimycin | 465 000 SIE/g |
| N-Methyl-1-desoxynojirimycin | 2 330 000 SIE/g |

Herstellungsbeispiel

Zu 4 ml 98 %iger Ameisensäure gibt man unter Eiskühlung 3,2 g 1-Desoxynojirimycin und 2 ml 30 %igen wäßrigen Formaldehyd. Anschließend wird 8 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen verdünnt man das Reaktionsgemisch mit Aceton. Es fällt ein harzartiger Niederschlag aus. Man dekantiert die Acetonlösung ab und wäscht das Harz mehrfach mit Aceton nach. Der Rückstand wird anschließend in destilliertem Wasser gelöst und die Lösung durch Zugabe von basischem Ionenaustauscher in der OH^- -Form (Amberlite JRA 410) von Ameisensäure befreit. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und die wäßrige Lösung unter vermindertem Druck zur Trockne gebracht. Zurück bleiben 3,0 g harziges N-Methyl-1-Desoxynojirimycin. Die Verbindung kann durch Chromatographie an Cellulose weiter gereinigt werden. Als Fließmittel wird wasserhaltiges Butanol verwendet.

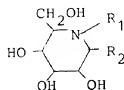
Zur Charakterisierung wird die Verbindung mit Acetanhydrid/Pyridin 1:1 bei Raumtemperatur in die peracetylierte Verbindung, N-Methyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-deoxynojirimycin, überführt. Von diesem Derivat wurde bei 100 MHz ein Protonenresonanzspektrum in CDCl_3 gemessen:

Zwischen $\delta = 2,0$ und $2,1$ ppm findet man 4 Singletts für zusammen 12 Protonen, die den Methylgruppen der O-Acetylgruppen entsprechen ($\text{CH}_3\text{-O-C-}$). Die an N gebundene Methylgruppe ($\text{CH}_3\text{-N}^+$) findet man als Singlett bei $\delta = 2,45$ ppm. Zwischen $\delta = 2,1$ und $2,5$ ppm absorbieren als schlecht aufgelöste Multipletts zwei Protonen an einem an Stickstoff gebundenen C-Atom (-C-N^+). Ein weiteres derartiges Proton erscheint als Dublett von einem Dublett ($J_1 = 11$ Hz; $J_2 = 4$ Hz)

bei $\delta = 3,18$ ppm. Bei $\delta = 4,16$ und $\delta = 4,22$ ppm absorbiert eine Methylengruppe ($-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$) als AB-System. Die restlichen drei Protonen ($-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$) findet man als Multiplett zwischen $\delta = 4,9$ und $5,2$ ppm.

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel I



I

in der

R₁ einen gegebenenfalls substituierten geradkettigen, verzweigten, cyclischen, gesättigten oder ungesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffrest oder einen gegebenenfalls substituierten aromatischen oder heterocyclischen Rest darstellt und

R₂ H, OH, Alkoxy, Amino, Mono- und Dialkylamino, -SO₃H oder -CN bedeutet.

2. Verbindungen gemäß Anspruch 1, bei denen

R₁ einen gegebenenfalls substituierten Alkylrest mit 1 bis 30, vorzugsweise 1 bis 18 C-Atomen, einen gegebenenfalls substituierten Alkenylrest mit 2 bis 6 C-Atomen, einen gegebenenfalls substituierten carbocyclischen Rest mit 3 bis 7 C-Atomen, einen gegebenenfalls substituierten Phenyl-, Naphthyl- oder Benzylrest oder einen gegebenenfalls substituierten 5- oder 6-gliedrigen heterocyclischen Rest mit vorzugsweise 1 bis 3 gleichen oder verschie-

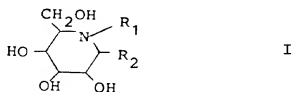
denen Heteroatomen bedeutet und

R^2 H, OH, Alkoxy mit 1 bis 4 C-Atomen, Mono- und Di-alkylamino mit 1 bis 4 C-Atomen je Alkylrest, $-SO_3H$ oder $-CN$ bedeutet.

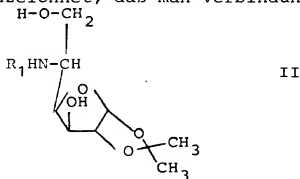
3. Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1 und 2, bei denen R_2 H, $-OH$ oder $-SO_3H$ ist.

4. N-Methyl-1-desoxynojirimycin.

5. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I



in der R_1 und R_2 die oben angegebene Bedeutung besitzen, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen der Formel II



in der R_1 die oben angegebene Bedeutung besitzt, zur Entfernung der Isopropylidenschutzgruppe der Säurehy-

drolyse unterwirft und die Verbindungen der Formel II mit $R_3 = -OH$ als solche oder gegebenenfalls nach Umsetzung mit schwefliger Säure, Blausäure, Alkoholen, Mono- oder Dialkylaminen oder Umsetzung mit Wasserstoff-Donor-Reduktionsmitteln in Form ihrer Derivate isoliert.

6. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I, in der R_1 die oben angegebene Bedeutung hat und R_2 für Wasserstoff steht, dadurch gekennzeichnet, daß man 1-Desoxynojirimycin der Formel III



III

- a) mit Carbonylverbindungen der Formel IV



IV

in der

- R_3, R_4 entweder H bedeuten oder die oben für R_1 angegebene Bedeutung besitzen oder Glieder eines alicyclischen oder heterocyclischen Ringes sind, in Gegenwart eines Wasserstoff-Donor-Reduktionsmittels umgesetzt oder

- b) mit reaktiven Alkylierungsmitteln der Formel VII

in der R₁ die oben angegebene Bedeutung besitzt und Z eine bei Alkylierungsmitteln gebräuchliche leicht austretende Gruppe darstellt, umgesetzt und die Ansätze in üblicher Weise aufarbeitet.

7. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung gemäß den Ansprüchen 1 bis 3 und gegebenenfalls pharmazeutisch geeigneten Zusatzstoffen.
8. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung gemäß Anspruch 1 gegebenenfalls unter Verwendung pharmazeutisch geeigneter Zusatzstoffe formuliert.
9. Verfahren zur Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung gemäß den Ansprüchen 1 bis 3 Menschen oder Tieren appliziert.
10. Verwendung einer Verbindung gemäß Ansprüchen 1 bis 3 bei der Behandlung von Adipositas, Diabetes und/oder Hyperlipämie.
11. Tierfuttermittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung gemäß den Ansprüchen 1 bis 3.
12. Verwendung einer Verbindung gemäß den Ansprüchen 1 bis 3 bei der Tierernährung.

13. Verfahren zur Vermeidung eines unerwünschten Fettansatzes und zur Erreichung eines erhöhten Fleischansatzes sowie zur besseren Futterausnutzung bei Tieren, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1 bis 3 Tieren eingibt.